Experimentelle Untersuchungen zur Metastasierung

Peter Heuck

1962

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546009_0068

AUS DEM
PHATOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Prof. Dr. W. Büngeler

Experimentelle Untersuchungen zur Metastasierung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Peter Heuck
aus Ludwigshafen

München 1962

A. Schubert, München 5, Corneliusstr. 21 · Telefon 221777

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Professor Dr. W. DONTENWILL
Correferent:	Professor Dr. W. BÜNGELER
Dekan:	Professor Dr. A. HERRMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 6. November 1962

MEINER MUTTER

IN DANKBARKEIT GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
A.	EINLEITUNG	7
B.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	9
	1. Material und methodik	9
	2. Ergebnisse	10
	a) Ergebnisse der Versuche zur Resistenz und Immunität	10
	b) Die Metastasierung des Yoshida-Sarkoms nach den verschiedenen Behandlungsmethoden	12
	c) Die Serumeiweißzusammensetzung der untersuchten Tiere	14
C.	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	16
D.	ZUSAMMENFASSUNG	20
E.	LITERATURVERZEICHNIS	21

A. EINLEITUNG

Seit JENSEN (1903) erstmals eine Immunität von Mäusen gegen Tumortransplantate beschrieb, haben sich eine große Zahl von Untersuchern mit dem Problem der Resistenz gegen Impftumoren befaßt.

Nach DRUCKREY (1959) beträgt die Angehrate bei den Transplantationsgeschwülsten 85 bis 95 %. Abgesehen von Zufälligkeiten bei der Impfung, wie Infizierung des Transplantats, Übertragung nicht lebensfähiger Tumorzellen usw. beruht das Ausbleiben des Tumorwachstums nach JUNKMANN (1948) möglicherweise auf einer individuellen Eigenschaft des betreffenden Tieres. Jeder Tumor hat einen bestimmten Prozentsatz primär resistenter Tiere, dieser steigt mit der Häufigkeit der Transplantationen (JUNKMANN 1948, HORN 1961). Die resistenten Tiere werden im allgemeinen "Nuller-Tiere" genannt. Für die Ursache der Spontanresistenz bei nicht vorbehandelten Tieren gibt es bis heute keine ausreichende Erklärung (DOMAGK 1956).

Bei Versuchstieren kann durch verschiedene Behandlungsmethoden eine Resistenz gegen bestimmte Transplantationstumoren erzeugt werden. Sie wird von vielen Untersuchern als eine "spezifische Reaktion" aufgefaßt. Bei Mäusen konnte McDOWELL (1934) gegen Leukaemie Immunität erzeugen, nachdem er Bruchteile (1/524000) einer zum Angehen des Transplantates notwendigen Dosis injizierte. KOEKE (1952) gelang es, durch Verabreichung von zellfreien Extrakten des Mäuseascitescarcinoms, und FELDMANN und SACHS (1957) nach Entfernung des ersten Transplantats durch Absaugen und Spülungen der Bauchhöhle, die Tiere gegen weitere Transplantationen zu schützen.

HACKMANN (1951) und BENAD und FROHBERG (1957) immunisierten Kaninchen durch Verimpfung von Brown-Pearce-Tumorgewebe in die vordere Augenkammer. In der Gewebekultur sah FILATOV (1959) eine Hemmung des Tumorwachstums, wenn er Seren mit "spezifischen Antikörpern" zusetzte.

LEWIN (1912) führte mit transplantablen Sarkomen Immunisierungsversuche bei Ratten durch. Er verimpfte Autolysate und erreichte damit bei tumortragenden Tieren Wachtumsstillstand, Verkleinerung und völlige Rückbildung der Geschwulst. Eine "spezifische Immunisierung" gegen weitere Transplantationen gelang nicht. Beim JENSEN-Sarkom und beim EHRLICH-Carcinom konnten MOROZ und BRITE (1941) durch Injektion von Preßsaft aus diesen Tumoren die Widerstandskraft gegen nachfolgende Transplantationen erhöhen. Am JENSEN-Sarkom wurde durch operative Entfernung des Tumors eine Resistenz gegen weitere Geschwulstübertragungen erzielt (DRUCKREY, HAMPERL, HERKER und HAREY 1939 und JUNKMANN 1948). SCHRECK und PRESTON (1956) fanden beim Bagg-Lympho-Sarkom der Ratte, nach spontaner Rückbildung des Tumors, angeblich "spezifische Antikörper". Beim WALKER-Tumor konnte nach Behandlung mit Resistentenserum das Wachstum verlangsamt werden. Als Erklärung der Wachstumshemmung wurde die passive Über-

tragung von spezifischen Antikörpern angenommen (SEKLA und BARVIC 1957). Nach Immunisierung von Kaninchen mit WALKER-Tumorgewebe wurden angeblich Antikörper aus der Alpha-2 und Gamma-Fraktion des Serums isoliert und bei tumortragenden Tieren nach Injektion desselben eine wachstumshemmende Reaktion festgestellt (BUINANSKAS, McCREDIE, BROWN, COLE 1959). Vollständige Resistenz erzielten LEWIS und APTEKMANN (1952) durch Unterbindung transplantabler, stammeigener Sarkome und Carcinome. Nach Übertragung von "degeneriertem" Tumorgewebe gelang es, Ratten aktiv zu immunisieren. Nach Injektion von tiefgekühltem WALKER-Tumorgewebe erzeugten FROHBERG und MATHIES (1956) bei einigen Tieren Resistenz gegen weitere Geschwulsttransplantationen. Mit tiefgekühltem Yoshida-Sarkom-Gewebe verlief der Versuch erfolglos. EULER, H. und B. (1957) verlängerten die Überlebenszeit von Ratten mit Yoshida-Ascites-Tumor, nachdem sie zuvor eine subkutane Doppelimpfung mit dem gleichen Tumor vorgenommen hatten. DREES, FROHBERG und MATHIES (1959) nehmen an, daß das mangelnde Angehen einer zweiten Impfung mit Yoshida-Sarkom auf die Bildung von "spezifischen Antikörpern" zurückzuführen ist. NAGASAWA (1951) sah in Agglutinationsversuchen einen Beweis der Antikörperbildung. Durch intracoecale Vaccination mit dem Yoshida-Ascites-Sarkom gelang es PETRI und LUND 1958 (und LUND 1959), eine Resistenz gegen weitere Transplantationen zu erzeugen. Auch HORN (1962) erreichte eine Immunität durch Strangulation des wachsenden, subkutan verimpften WALKER-Carcinoms, Yoshida-Sarkoms (jeweils 100 %) und JENSEN-Sarkoms (99 %).

Trotz dieser ausgedehnten Untersuchungen ist es nach FISCHER und KÜHL (1958) bis heute noch umstritten, ob eine, gegen einen Tumor gerichtete, "spezifische Immunisierung" überhaupt möglich ist. Viele Untersucher konnten auch nach unspezifischer Behandlung eine Tumorresistenz erzielen. So gelang es SCHEINBERG (1952), Mäuse durch Injektion von Haemophilus pertussis Vaccine gegen ein "Gliom" zu immunisieren. HUTH (1952) brachte Mäuseascitescarcinome durch Injektion von Oideum albicans oder Penicillium notatum zur Rückbildung. LEWIN (1912) fand nach Vorbehandlung mit Mäusetumoren bei Ratten eine tumorhemmende Wirkung. JAKOBSEN (1934) beobachtete Rückbildung apfelgroßer Sarkome bei Ratten nach subkutaner Injektion von Mäusetyphuskeimen und KLÄRNER (1958) Regression des Yoshida-Sarkoms nach einmaliger Injektion eines Lipopolysacharids aus Escherichia coli.

Bei unseren Untersuchungen stellten wir uns die Frage:
Gibt es eine angeborene, natürliche oder erworbene Resistenz, die das Wachstum eines transplantierten Tumors verhindern kann?

B. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Material und Methodik

Für unsere Untersuchungen verwendeten wir ingezuchtete männliche und weibliche Ratten des Sprague-Dawly Stammes mit einem Gewicht von 150 bis 180 g. Das solid gewachsene Yoshida-Sarkom wurde nach Zerkleinerung in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt (1:1). Jeweils 0,5 ml der sterilen Suspension wurden im Lendenbereich subkutan injiziert.

Die verschiedenen Versuchsgruppen wurden wie folgt behandelt:

Gruppe 1: 5 bis 8 Tage nach der Transplantation waren die Tumoren haselnuß- bis kleinkirschgroß. Durch Operation entfernten wir die Tumoren weit im Gesunden. Bei sichtbarer Vergrößerung der Inquinallymphknoten wurden diese gleichzeitig entfernt.

Gruppe 2: 5 bis 8 Tage nach der Transplantation wurden die Tumorknoten stranguliert. Die bis kleinkirschgroßen Tumoren wurden mit der Haut abgehoben und mit einem Gummiband von den tieferen Gewebeschichten abgebunden.

Gruppe 3: Im Abstand von einer Woche injizierten wir subkutan jeweils 0,5 ml homogenisiertes und mit physiologischer Kochsalzlösung verdünntes Yoshida-Tumorgewebe. Zehn Tage nach der letzten Behandlung wurde den Tieren normales Tumorgewebe transplantiert.

Gruppe 4: Alpha-, Beta- oder Gamma-Globuline, getrennt nach der Methode von GRASSMANN und HANNIG (1953), erhielten die Tiere subkutan verabreicht. Die Serumgewinnung erfolgte durch Ausbluten der Ratten (28) in Narkose am 10. bis 12. Tage nach der Tumortransplantation. Es konnten 52 ml Serum gewonnen werden. Zur Trennung der Globuline verwendeten wir den Elphor V (BENDER und HOBEIN), Filtrierpapier 604 L, und einen Veronal-Veronalnatriumpuffer von ph 8,6. Die mit Pufferlösung stark verdünnten, isolierten Globuline wurden in Kollodiumhülsen auf jeweils 10,0 ml eingeengt. Eine analytische Überprüfung ergab, daß die isolierten Alpha-, Beta- und Gamma-Globuline nur gering mit anderen Serumbestandteilen verunreinigt waren. Die mit Alpha-Globulin behandelten Ratten (3) erhielten je 32,2 mg, mit Beta-Globulin (3) je 68,4 mg und mit Gamma-Globulin (3) je 30,8 mg Eiweiß. Die Injektion der Globuline erfolgte 7 Tage nach der Tumortransplantation.

Gruppe 5: In dieser Gruppe wurden tumorbeimpfte Tiere ohne weitere Behandlung zusammengefaßt.

Den Wert der verschiedenartigen Behandlungen beurteilten wir in Bezug auf die Angehrate des Transplantats, die Überlebenszeit tumortragender Tiere und die Metastasierung. Gleichzeitig erfolgte eine Kontrolle der

Zusammensetzung der Bluteiweißkörper. Bei den Versuchstieren, die sich gegen das Transplantat resistent erwiesen und bei Tieren, die nach Operation oder Unterbindung des angegangenen Tumors rezidivfrei blieben, wiederholten wir abhängig vom Allgemeinzustand innerhalb von 14 bis 30 Tagen die Transplantation. Als Metastasen wurden makroskopisch sichtbare Tumorknoten angesehen. Bei fraglichen Metastasen wurde zur Klärung eine histologische Untersuchung durchgeführt. Die Serumeiweißveränderungen wurden in den verschiedenen Versuchsgruppen untersucht, um mögliche Änderungen der Bluteiweißkonstellation nachweisen zu können. Die Blutentnahme zur Serumelektrophorese erfolgte in Ätharnarkose aus der Schwanzspitze 10 bis 20 Tage nach Excision oder Unterbindung des Tumors, bzw. eine Woche nach jeder Behandlung mit Tumorhomogenisat. Weiterhin wurden von den, auch nach wiederholter Transplantation resistenten Tieren Elektropherogramme angefertigt. Als Kontrolle diente das Serum von 10 Normaltieren.
Die qualitative Papierelektrophorese wurde nach der Methode von GRASSMANN und HANNIG durchgeführt in dem Elphorgerät von der Firma Bender und Hobein. Die Laufzeit im elektrischen Feld betrug 14 bis 16 Stunden.

2. Ergebnisse

a) Ergebnisse der Versuche zur Resistenz und Immunität

Von 42 Tieren der Gruppe 1, die nach der ersten Tumortransplantation operiert wurden, blieben 12 Tiere rezidivfrei, d.h. 28,5 %. Durchschnittlich 26,5 Tage später starben 30 Tiere am örtlichen Rezidiv oder an Metastasen. Die 12 rezidivfreien Tiere wurden ein zweites Mal mit Tumorgewebe beimpft. Davon mußten vier Ratten wegen starker Verjauchung des Tumors und schlechtem Allgemeinbefinden getötet werden. Bei zwei Tieren ging der Tumor nicht an. Drei Tiere wurden ein zweites Mal operiert. Wegen starker Infiltration der Geschwulst in die umgebende Muskulatur waren drei Tiere inoperabel. Nach der zweiten Operation war nur mehr ein Tier rezidivfrei.

Die beiden Tiere, die auch nach der zweiten Transplantation keine Geschwulstbildung zeigten, waren auch gegen eine dritte und vierte Transplantation widerstandsfähig. Ein Tier, dreimal operiert und rezidivfrei überstand die vierte Transplation (Tabelle 1).

Zahl der Transplantationen	1.	2.	3.	4.
Zahl der Tiere	42	12	3	3
resistente Tiere	-	2	2	3
operierte Tiere	42	3	1	-
rezidivfreie Tiere	12	1	1	-

Tabelle 1: Zahl der resistenten Tiere nach mehrmaliger Transplantation und nachfolgender operativer Entfernung des Tumors.

Abgebunden wurden haselnuß- bis kleinkirschgroße Tumoren bei 49 Tieren der Gruppe 2. Bei nur sieben Tieren trat kein Rezidiv auf, d.h. bei 14,3 %. Die durchschnittliche Überlebenszeit betrug 28,2 Tage. Auf die überlebenden Tiere wurde der Tumor ein zweites Mal transplantiert. Bei zwei Tieren ging der Tumor nicht an. Diese zwei "tumorresistenten" Tiere zeigten auch nach der dritten und vierten Transplantation kein Geschwulstwachstum (Tabelle 2).

Zahl der Transplantation	1.	2.	3.	4.
Zahl der Tiere	49	7	2	1
resistente Tiere	-	2	2	1
Tu. unterbunden-Tiere	49	1	-	-
rezidivfreie Tiere	12	-	-	-

Tabelle 2: Zahl der resistenten Tiere nach mehrmaliger Transplantation mit nachfolgender Entfernung des Tumors durch Unterbindung.

Drei Tiere wurden wegen Vereiterung des Tumors und schlechtem Allgemeinbefinden getötet. Bei einem Tier war eine Unterbindung der Geschwulst wegen starker Infiltration nicht mehr möglich. Ein Tier starb nach Abbinden des Tumors an Metastasen.

Bei den insgesamt 25 Tieren der Gruppe 3, die nach dreimaliger Vor-Behandlung mit Tumorhomogenisat (0,5 ccm) lebensfähiges Geschwulstgewebe überimpft bekamen, ging das Transplantat an. Bei allen neun Tieren der Gruppe 4 konnte die Verabreichung von Alpha-, Beta- und Gamma-Globulinen aus Seren tumortragender Ratten die Überlebenszeit nicht eindeutig beeinflussen.

Ein Versuchstier zeigte nach der Verabreichung von Alpha-Globulin eine fast völlige Rückbildung des Tumors, der sich nach zwei Monaten wieder vergrößerte. 86 Tage nach der Tumortransplantation starb das Tier. Die Überlebenszeit der beiden anderen Tiere nach Behandlung mit Alpha-Globulin und der sechs Tiere nach Behandlung mit Beta- und Gamma-Globulin war nicht verlängert. Die durchschnittliche Überlebenszeit der Tiere von Gruppe 4 betrug 26,8 Tage.

Von 222 Tieren der Gruppe 5 war nach einmaliger Tumorübertragung bei 22 Tieren (10 %) das Geschwulsttransplantat nicht angegangen. Von diesen 22 Tie-

ren blieben nach der zweiten, dritten und vierten Tumortransplantation nur noch zwei Tiere tumorfrei (0, 9 %) (Tabelle 3).

Zahl der Transplantation	1.	2.	3.	4.
Zahl der Tiere	222	22	6	2
resistente Tiere	22	6	2	2

Tabelle 3: Zahl der resistenten Tiere nach mehrmaliger Transplantation ohne Behandlung.

b) Die Metastasierung des Yoshida-Sarkoms nach den verschiedenen Behandlungsmethoden

Bei zusammen 109 Tieren wurde die Metastasierung des transplantierten Tumors untersucht. Am häufigsten wurden Metastasen bei Tieren mit abgebundenem Tumor beobachtet (80, 6 %). Dann folgten die Tiere, die Tumorhomogenisat erhalten hatten (78, 6 %). Nach der Verabreichung von Alpha-, Beta- oder Gamma-Globulinen fanden wir bei 33, 3 % der Tiere eine Tumormetastasierung.

Die Metastasierung war besonders eindrucksvoll nach Operation und Unterbindung des Tumors. Bei der Sektion sahen wir vielfach Tumormetastasen im Bereich der portalen Lymphknoten mit Verschluß des Ductus choledochus und hochgradigem Ikterus. In Einzelfällen kam es zu einem Ileus. Metastasen in den mesenterialen Lymphknoten führten zur Stenosierung des Darmes. 21, 7 % der operierten Tiere und 19, 2 % der Tiere nach Unterbindung des Tumors starben an Metastasen ohne örtliches Rezidiv.

Die Überlebenszeit der Tiere und die Häufigkeit der Metastasenbildung zeigt Tabelle 4. Die Lokalisation der Metastasen war in allen Gruppen annähernd gleich (Tabelle 5).

Lokalisation	Zahl der Tiere	%
Mesenterium und Darmlymphknoten	64	58, 7
Thymus und Bronchiallymphknoten	21	19, 3
Paraaortale Lymphknoten	8	7, 3
Kniefaltenlymphknoten	5	4, 6
Axillarlymphknoten	1	0, 9
Mandibularlymphknoten	1	0, 9
Darm	3	2, 7
Lunge	2	1, 8
Niere	2	1, 8

Tabelle 5: Die Lokalisation der Metastasen des Yoshida-Sarkoms nach subkutaner Tumortransplantation.

Art der Behandlung	Zahl der Tiere	ohne Metastasen Zahl der Tiere	%	mit Metastasen Zahl der Tiere	%	Lebensdauer ø Tage	von-bis Tage
Operation	23	8	34,8	15+	65,2	26,5	15-31
Unterbindung	26	5	19,4	21++	80,6	28,2	13-44
Homogenisat-injektion	14	3	21,4	11	78,6	20,7	10-30
Behandlung mit Globulinen	9	6	66,6	3	33,3	26,6	14-86
Kontrollen	37	18	48,6	19	51,4	20,8	9-37
zusammen Tiere	109	40	36,7	69	63,3		

+) Davon hatten 5 Tiere Metastasen ohne örtliches Rezidiv (21,7 %)
++) Davon hatten 5 Tiere Metastasen ohne örtliches Rezidiv (19,2 %)

Tabelle 4: Die Metastasierung des Yoshida-Sarkoms nach den verschiedenen Behandlungsmethoden.

Am häufigsten wurden die Mesenterial- und Darmlymphknoten von Metastasen befallen. Es folgten der Thymus und die Bronchiallymphknoten mit 19,3 %, die paraaortalen Lymphknoten mit 7,3 % und die oberflächlichen Inquinallymphknoten mit 4,6 %. Seltener fanden wir Metastasen in Darmwand, Lunge und Nieren (jeweils 1,8 %).

Oft war es schwierig zu entscheiden, ob die Metastasenbildung primär über die Blutbahn erfolgte oder ob sie sekundär durch Infiltration von befallenen Lymphknoten entstanden war. Bei einem Fall wurden Metastasen im Axillar- und bei einem zweiten in den Maxillarlymphknoten beobachtet. Die Tumorknoten waren bis kirschgroß.

Bei 34 Tieren wurden histologische Untersuchungen verschiedener Organe durchgeführt. Sie bestätigten im wesentlichen die makroskopisch erhobenen Befunde. In zwei Fällen konnten in den kleineren Lungengefäßen Geschwulstthromben nachgewiesen werden. Bei einem Tier sahen wir in der Milz perivaskuläre Geschwulstinfiltrate.

Diese befunde lassen erkennen, daß die Metastasierung vorwiegend auf dem Lymphweg erfolgt. Der Befall der Organe auf dem Blutweg war selten.

c) Die Serumeiweißzusammensetzung der untersuchten Tiere

Die gefundenen Veränderungen der Serumeiweißzusammensetzung waren gering und wenig charakteristisch (Tabelle 6). Das Serum von elf operierten Tieren ohne Recidiv zeigte eine Verminderung der Albumine und eine leichte Erhöhung der Gamma-Globuline.

Nach Unterbindung des Tumors waren die Albumine, Alpha 1-, Beta- und Gamma-Globuline unverändert im Bereich der Norm, nur die Alpha-2-Fraktion des Serums war leicht erhöht. Bei den mit Tumorhomogenisat behandelten Tieren fanden sich nur unwesentliche Serumveränderungen. Sechs resistente Tiere zeigten eine deutliche Verminderung der Albumine und eine Vermehrung der Alpha-2-Globuline; die Gamma-Globuline waren leicht erhöht.

Ratten der Gruppe	1(operiert)	2(abgebunden)	3(Homogenisatinjektion) 1. Homog.	2. Homog.	3. Homog.	4. Homog.	Resistente Tiere	Normaltiere
Albumine	38, 4	39, 4	41, 1	43, 7	41, 4	42, 2	34, 6	40, 9 $\pm$ 2, 88
Alpha-1-Glob.	11, 7	13, 6	11, 4	13, 8	12, 8	12, 4	14, 5	14, 2 $\pm$ 2, 12
Alpha-2-Glob.	7, 2	9, 7	5, 2	6, 7	7, 3	7, 1	9, 15	7, 3 $\pm$ 1, 2
Beta-Glob.	22, 4	19, 8	21, 4	18, 0	18, 1	18, 9	21, 6	20, 8 $\pm$ 1, 76
Gamma-Glob.	20, 3	17, 2	20, 4	17, 9	20, 4	19, 4	20, 15	16, 8 $\pm$ 3, 07
Zahl der Tiere von denen der Durchschnitt errechnet	11	6	3	5	6	10	6	10

Tabelle 6: Die Zusammensetzung der Bluteiweißkörper bei resistenten - und bei Tieren der Versuchsgruppen 1, 2, 3

C. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Während in der Literatur (DOMAGK 1956) Metastasenbildungen bei Transplantationstumoren als selten angesehen werden, konnten wir in unseren Versuchen eine außerordentlich häufige Metastasierung beim Yoshida-Sarkom nachweisen. Bei 51,4 % der unbehandelten Tiere sahen wir Metastasen, während die operierten Tiere nach ein- oder mehrmaliger Entfernung des Tumors in 62,2 % Metastasen erkennen ließen. Die größte Metastasenhäufigkeit zeigten die mit Tumorhomogenisat behandelten Tiere (78,6 %) und jene, bei denen der Tumor abgebunden worden war (80,6 %). Nach Behandlung der Tumortiere mit Globulinen sahen wir eine Verminderung der Metastasenhäufigkeit auf 33,3 %. Diese war also nach Entfernung des Tumors durch Operation oder Unterbindung größer, während sie bei Globulinbehandlung deutlich abnahm. Die Metastasierungszunahme war gleichzeitig mit einer Zunahme der Überlebenszeit verbunden. Die Metastasen breiteten sich vorwiegend lymphogen aus. Sie fanden sich in den Mesenterial- und Bronchiallymphknoten, im Thymus und in den paraaortalen Lymphknoten, nur vereinzelt im Darm, in der Lunge und in den Nieren.

SCHMÄHL und RIESEBERG (1958) sahen bei Ratten nach Transplantation des Yoshida-Sarkoms in die Lymphspalten des kranialen Schwanzdrittels bei 80 % der Tiere Metastasen. Diese zeigten dabei eine ähnliche Lokalisation wie bei unseren Versuchstieren und zwar vorwiegend in den axillären, inquinalen und paraaortalen Lymphknoten. Die höhere Metastasenquote liegt wahrscheinlich an der Applikationsart in die lymphgefäßreiche Schwanzregion und an dem möglicherweise leichter anwachsenden Ascites-Yoshida-Sarkom. Nach operativer Entfernung des gleichen Tumors beobachtete LO (1957) außerdem noch Metastasen in Pankreas, Nebenniere, Thymus und Ovar, vereinzelt auch in der Lunge. Die Erklärung für die Zunahme der Geschwulstabsiedlungen fand SCHATTEN (1958) in der athreptischen Theorie (EHRLICH 1907). Er führte das häufigere Auftreten von Metastasen auf deren besseren Wachstums- und Ernährungsbedingungen nach Entfernung des Primärtumors zurück. Weit mehr Wahrscheinlichkeit kommt der zweiten Deutung zu, die von KETCHAM, WEXLER und MANTEL (1961) geführt wurde. Nach ihrer Ansicht ist die Zunahme der Metastasierung nach Entfernung des Primärtumors durch die verlängerte Überlebenszeit zu erklären. Die behandelten Tiere lebten in unseren Versuchen etwa eine Woche länger wie die Kontrollen und es ist wahrscheinlich, daß aus diesem Grund die Möglichkeit des Anwachsens von metastasierten Tumorzellen größer ist. Die Frage, ob die stärkere Metastasierung nach der Operation auf einer Ausschwemmung von Tumorzellen aus dem Operationsgebiet beruht, kann weitgehend verneint werden. Dies zeigen unsere Versuche bei der Strangulation des Tumors, nach der die Metastasierung noch häufiger auftrat wie nach operativer Entfernung. Diese Ansicht wird gestützt durch die Versuche von BÜNGELER (1938), der nach mehrmaligen kreuz-

weisen Incisionen in spontane Mammacarcinome bei Mäusen sogar eine Verringerung der Metastasenbildung beobachten konnte. BÜNGELER nahm als Ursache für diesen Befund eine unspezifische Resistenzsteigerung durch Sekundärinfektion des Tumors an, die durch die Incisionen bedingt war. Eine weitere Bestätigung für unsere Meinung sehen wir in den Ergebnissen der Versuche von BALLEIN und GUAMARAES (1962), die beim Yoshida-Sarkom makroskopisch nicht sichtbare Tumorzellen in verschiedenen Organen nachweisen konnten und die zeigten, daß es zur Metastasierung keiner artifiziellen Ausschwemmung von Tumorzellen bedarf.

Nach unserer Ansicht ist also häufig eine Ausschwemmung von Tumorzellen vorhanden, aber diese haben erst durch die verlängerte Überlebenszeit nach Abbindung oder operativer Entfernung des Tumors eine Möglichkeit zu sichtbaren Metastasen anzuwachsen. Der Sinn der Abbindung oder operativen Entfernung des Tumors war eigentlich nicht die Metastasierung zu fördern, sondern dem Organismus Gelegenheit zu geben, durch eine, während des Tumorwachstums erfolgte Antikörperbildung das weitere Wachstum noch verbliebener Tumorzellen oder die Rezidivierung des Tumors zu verhindern. Die Untersuchungen zeigten eigentlich gerade das Gegenteil, nämlich das Anwachsen der verschleppten Tumorzellen und die Bildung von Metastasen bei verlängerter Überlebenszeit der Tiere

Die Angehrate des solid gewachsenen Yoshida-Sarkoms betrug bei der ersten Impfung etwa 90 %, bei der zweiten 72, 7 % und bei der dritten etwa 66, 6 %. Bei der vierten Tumortransplanation ging der Tumor nicht mehr an. Nach viermaliger Tumortransplantation waren noch 0, 9 % der Tiere resistent.

Durch operative Entfernung der Geschwulst wurde eine Lebenszeitverlängerung von 5, 7 Tagen, durch Unterbindung von 7, 4 Tagen erzielt. Die durchschnittliche Überlebenszeit der unbehandelten Tiere nach Angehen des Transplantats betrug 20, 8 Tage. Durch die Unterbindung wurde demnach die Überlebenszeit um etwa ein Drittel verlängert.

Nach einmaliger Operation des Tumors waren von 42 Tieren 12 Tiere rezidivfrei und ohne Metastasen. Bei 7 von 49 Tieren trat nach der Unterbindung kein Tumorrezidiv auf. Resistenz gegen weitere Transplantationen konnten wir nach ein- oder mehrmaliger Operation bei 3 von 42 Tieren (7 %), nach Unterbindung bei 2 von 49 Tieren (4, 1 %) beobachten. Nach Behandlung mit Tumorhomogenisat fanden sich keine resistenten Tiere gegenüber einer Transplantation. Die Globulininjektionen ließen lediglich eine geringere Metastasierung erkennen aber kein Ausbleiben des Tumorwachstums.

Die von uns erhobenen Befunde wiesen mit Ausnahme der Ergebnisse nach Strangulation bzw. Abbinden des Tumors weitgehende Übereinstimmung mit denen anderer Untersucher auf. So fanden LETTRE (1951), FROHBERG und MATHIES (1956), HORN (1961) und WRBA und RABES (1962) eine Angehrate des Yoshida-Sarkoms nach Erstimpfung zwischen 88, 4 und 93 %. Nach dreimaliger Transplantation waren bei HORN (1961) noch 1, 76 % der ursprünglich in den Versuch ge-

nommenen Tiere resistent. Nach unseren Untersuchungen fanden sich nach der dritten Impfung noch 1, 3 % resistente Tiere. LO (1957) konnte nach operativer Entfernung des subkutan verimpften Yoshida-Sarkoms bei 6 von 15 Tieren keine Rezidive nachweisen. Er führte im Gegensatz zu uns keine weiteren Transplantationen auf die Tiere durch, die nach der ersten Operation rezidivfrei waren. HORN (1962) sah nach Strangulation des Tumors bei allen Tieren eine Resistenz gegenüber weiteren Transplantationen.

Der Unterschied zwischen den Ergebnissen unserer Versuche und denen von HORN liegt wohl in der verschiedenen Methodik. HORN verwandte zur Unterbindung des Tumors einen Perlonfaden, der nur zu einer Drosselung und nicht zu einer völligen Unterbrechung der Blutversorgung führte. Bei unserer Methode mit völliger Unterbindung der Blutversorgung trat eine weitgehende Nekrose des Tumors und der Haut auf. Bei den Versuchen von HORN handelt es sich möglicherweise um eine Immunisierung der Tiere durch nicht völlig untergegangenes Tumorgewebe. Dafür sprechen ähnliche Ergebnisse, die LEWIS und APTEKMAN (1952) bei Ratten erzielen konnten. Sie verhinderten das Angehen des transplantierten Tumors, indem sie die Tiere mit degeneriertem Tumorgewebe stammeigener, transplantabler Tumoren immunisierten. Das degenerierte Tumorgewebe war durch Unterbrechung der Blutzufuhr gewonnen worden.

Nach Homogenisatverabreichung konnte auch HORN (1962) keine Resistenz erzeugen. Diese Ergebnisse stimmen also mit den unsrigen überein.

Untersuchungen über eine passive Immunisierung Yoshida-Tumor tragender Tiere durch Verabreichung von Globulinen sind uns nicht bekannt, so daß wir keine Vergleiche mit anderen Literaturangaben anstellen können.

Die Zusammensetzung der Bluteiweißkörper zeigte bei den verschiedenen Versuchsgruppen keine wesentlichen Unterschiede. Nur bei den resistenten Tieren fanden wir eine Erhöhung der Alpha-2- und Gamma-Globulinfraktion und eine Verminderung der Albumine. Diese Bluteiweißkonstellation findet sich vorwiegend bei akuten bis chronischen Entzündungen. Wir können annehmen, daß bei resistenten Tieren die Abwehrvorgänge anders ablaufen als bei nicht resistenten, mit Homogenisat vorbehandelten Tieren. Die Bluteiweißkonstellation der resistenten Tiere ist vielleicht Ausdruck einer erhöhten Abwehrreaktion gegenüber dem Tumor, wobei daraus keineswegs auf eine spezifische Geschwulstabwehr geschlossen werden kann. Eine spezifische oder unspezifische Reaktion gegen das Tumoreiweiß ist wahrscheinlicher.

Zehn bis zwanzig Tage nach der Entfernung des Tumors zeigt die Zusammensetzung der Bluteiweißkörper keine signifikante Veränderung. Wir sind der Ansicht, daß zu dieser Zeit die entzündlichen Reaktionen im Bereich des Tumors bereits abgeklungen sind und nekrotische Tumorbestandteile, die ja zu erheblichen Bluteiweißveränderungen führen, nicht mehr wirksam werden. Die Befunde bestätigen frühere Untersuchungen von DONTENWILL, RANZ und MOHR (1959), die nachweisen konnten, daß die starken Bluteiweißverschiebungen bei

tumortragenden Tieren im wesentlichen durch die Nekrosen im Tumor erzeugt werden. Auch die Ergebnisse nach Verabreichung von Tumorhomogenisat lassen vermuten, daß die relativ kleinen subkutan injizierten Tumorgewebsmengen schon nach etwa sieben Tagen resorbiert sind.

Auf Grund dieser Befunde möchten wir die Frage, ob die Widerstandsfähigkeit gegen einen Transplantationstumor auf einer angeborenen (natürlichen) Unempfänglichkeit oder auf einer von den Tumorzellen ausgelösten Immunität beruht (WRBA und RABES 1962) folgendermaßen beantworten: Um eine natürliche Resistenz, d.h. eine konstitutionell bedingte vererbare Eigenschaft kann es sich nicht handeln, da man in einem seit Jahren ingezüchteten Stamm auch weitgehend gleiche Eigenschaften erwarten müßte. Auf einen homologen Reiz muß bei einem isogenen Tiermaterial auch eine homologe Reaktion der einzelnen Tiere erfolgen. Eine primäre Resistenz wäre folglich bei sämtlichen Tieren des gleichen Stammes wirksam und erkennbar sein. Auch müßte in verschiedenen Versuchstierstämmen die Angehrate eines bestimmten Tumors einer größeren Variationsbreite unterliegen.

Eine spezifische Immunität als Ursache der spontanen Widerstandsfähigkeit gegen Tumorzellen kann nicht vorliegen, weil

1. ebenfalls sämtliche Tiere diese Fähigkeit aufweisen müßten, da auch die Fähigkeit zur Antikörperbildung genetisch verankert ist,
2. der Tumor sich nach der Transplantation gar nicht erst entwickelt. Eine durch Antikörper hervorgerufene Immunität kann jedoch erst nach etwa acht Tagen, also nachdem der Tumor schon vorübergehend gewachsen ist, wirksam sein.

Dagegen könnte es sich bei der spontanen Widerstandsfähigkeit, die bei der ersten Transplantation besteht, um eine unspezifische Praemunität handeln. Diese wäre durch unbekannte, expositionelle Faktoren bei einzelnen Tieren bereits vor der Transplantation erworben worden. Schließlich könnten aber auch unbekannte Faktoren, die mit der Impfung selbst in Zusammenhang stehen, das Angehen des Tumors verhindern.

Für die erworbene Widerstandsfähigkeit nach Entfernung des Yoshida-Sarkoms kann, abgesehen von den bereits erwähnten Möglichkeiten, eine mit dem Phänomen der Immunität vergleichbare, spezifische oder unspezifische Reaktion in Betracht kommen, die passiv, jedoch nicht übertragbar ist und auch durch die in der Bakteriologie üblichen Methoden aktiv nicht erzeugt werden kann. Wir neigen mehr zu der Ansicht, daß es sich hier um eine unspezifische Reaktion handelt (DONTENWILL 1955), die nur durch weitgehend unbekannte, expositionelle Faktoren ausgelöst wird.

Zusammenfassend kann angenommen werden, daß man die Ursache für das unterschiedliche Angehen eines bestimmten Transplantationstumors nicht in den genetischen Eigenschaften der Tumortiere und der Geschwulstzellen, sondern vorwiegend in anderen, vielleicht unmittelbar mit der Impfung in Zusammenhang stehenden Faktoren suchen muß.

D. ZUSAMMENFASSUNG

Die Resistenz gegen das subkutan verimpfte Yoshida-Sarkom bei ingezüchteten Ratten war Gegenstand unserer Untersuchungen. Von 222 Tieren zeigten 2 Tiere (0,9 %) eine primäre Resistenz. Die primäre Resistenz wurde nicht auf eine konstitutionell bedingte Eigenschaft, sondern auf eine erworbene Resistenz gegen den Tumor zurückgeführt.

Durch ein- oder mehrmalige Transplantation mit nachfolgender Entfernung des Tumors, durch Excision oder Unterbindung, gelang es bei 5 von 91 Tieren, eine Immunität gegen weitere Transplantationen zu erzeugen.

Durch Immunisierung mit Homogenisat war keine Resistenzsteigerung zu erzielen. Auch durch Verabreichung von Globulinen konnte das Tumorwachstum nur unwesentlich beeinflußt werden. Die Serumeiweißveränderungen nach Entfernung des Tumors und nach Homogenisatverabreichung sind uncharakteristisch. Dies wird auf das Fehlen von ausgedehnten Tumornekrosen zurückgeführt.

Die Bluteiweißkonstellation der resistenten Tiere war vom Typ der akuten bis chronischen Entzündung.

Die Metastasierung des Yoshida-Sarkoms bei behandelten und unbehandelten Tieren wird beschrieben und die Ursache für die Zunahme der Metastasenhäufigkeit nach Entfernung des Tumors besprochen.

Die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen unserer Arbeit und den Versuchen von HORN (1962) werden diskutiert.

E. LITERATURVERZEICHNIS

BALLINI, L. ; GUIMARAES, J.P. :
Tumor-Producing Capacity of Transplanted Lung and Spleen Taken from Yoshida Sarcoma Bearing Rats. Sep. Experientia 18, 186, 1962.

BENAD, G. ; FROHBERG, H. :
Immunitätsfragen beim Brown-Pearce Tumor.
Z.f. Krebsforsch. 61, 444, 1957.

BÜNGELER, W. : Die Metastasenbildung bei bösartigen Geschwülsten.
Die Med. Welt 1587, 1938.

BUINANSKAS, P. ; McCREDIE, J.A. ; BROWN, E.R. ; COLE, H.W. :
Experimental Treatment of Tumors with Antibodies.
Arch. of Surgery 79, 432, 1959.

DOMAGK, G. : Im Handbuch der Allgemeinen Pathologie IV, 3
Springer Verlag Göttingen, 1956.

DONTENWILL, W. :
Über "spezifische" Abwehrvorgänge bei malignen Geschwülsten.
Verh. der Deutschen Ges. für Path. 39. Tag.

DONTENWILL, W. ; RANZ, H. ; MOHR, U. ;
Die Bedeutung der Nekrose als Ursache der Bluteiweißveränderungen bei Tumoren.
Münchner Med. Wochenschrift 33, 1365, 1959.

DREES, L. ; FROHBERG, H. ; MATHIES, E. ;
Experimentelle Untersuchungen über das Doppelwachstum von Rattenimpfgeschwülsten.
Z.f. Krebsforsch. 62, 636, 1959.

DRUCKREY, H. : Im Handbuch der Physiologischen Chemie II c
Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1959.

DRUCKREY, H. ; HAMPERL, H. ; HERKEN, H. ; RAREI, B. :
Chirurgische Behandlung von Tiergeschwülsten.
Z.f. Krebsforsch. 48, 451, 1939.

EHRLICH, P. : Experimentelle Studien an Mäusetumoren.
Z.f. Krebsforsch. 5, 59, 1907.

EULER, von, H. und B.:
The Development of Resistance against Yoshida-Ascites-Sarcoma in Rats.
Arch. Biochem. 69, 16, 1957. ref. in Exerpta Med. Cancer 455, 127, 1958.

FELDMAN, M.; SACHS, C. J.:
The Antibody Response to Successful Tumor Homografts.
J. nat. Cancer Inst. 18, 529, 1957. ref. in Exerpta Med. Cancer 778, 1957.

FILATOV, P. P.: The Effect of Antisera on Brown Pearce Tumor in Tissue Culture
Byull. Eksper. Biol. i. Med. 46, 176, 1958. ref. in Cancer 7, 682, 1959.

FISCHER, W.; KÜHL, I.:
Geschwülste der Laboratoriumstiere.
Theodor Steinkopf Verlag, Dresden und Leipzig 1958.

FOLEY, E. J.: Attempts to Induce Immunity against Mammary Adenocarcinoma in Inbred Mice.
Cancer Res. 13, 578, 1953.

FROHBERG, H.; MATHIES, E.:
Untersuchungen zur Erzeugung von Tumorresistenz gegenüber Impfgeschwülsten.
Z. f. Krebsforsch. 61, 31. 1956.

GRASSMANN, W.; HANNIG, K.:
Trennung von Stoffgemischen auf Filtrierpapier durch Ablenkung im elektrischen Feld.
Hoppe-Seylers Z. f. phys. Chemie 292, 32, 1953.

HACKMANN, Chr.:
Experimentelle Studien über Heilungsvorgänge bei bösartigen Geschwülsten.
Z. f. Krebsforsch. 57, 164, 1951.

HORN, K. H.: Versuche über die natürliche Resistenz bei nicht ingezüchteten Ratten und Mäusen gegenüber langtransplantierten Impfgeschwülsten.
Acta biol. med. germ. 7, 296, 1961.

HORN, K. H.: Experimentelle Untersuchungen über Resistenzerzeugung gegen Transplantationstumoren bei nicht ingezüchteten Ratten, Mäusen und Hamstern.
Acta biol. med. germ. 8, 301, 1962.

HUTH, E.F. : Die Bedeutung der sogenannten Spontanheilungen und Remissionen für die Therapie und Pathogenese der Leukosen und malignen Tumore.
Z.f. Krebsforsch. 58, 524, 1952.

JAKOBSEN, Chr. : Der chronische Reiz des retikuloendothelialen Systems, eine Krebshemmung.
Arch. f. Dermatol. 169, 562, 1934.

JUNKMANN, K. : Einiges über Impftumoren.
Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakologie 205, 276, 1948.

KETCHAM, A.S. ; WEXLER, H. ; MANTEL, N. :
Studies on the Effects of Surgery on Transplanted Animal Tumors and their Metastases.
J. of the Nat. Cancer Inst. 27, 1311, 1961.

KLÄRNER, P. : Regression des Yoshida Sarkoms nach einmaliger Injektion eines Lipoplysacharids aus E. coli.
Z.f. Krebsforsch. 62, 291, 1958.

KOECKE, U. : Zytologische Untersuchungen über die Impfung mit Ascites-Karzinom bei der Maus nach aktiver Immunisierung.
Verh. der Deutschen Gesellschaft f. Path. 103, 1952.

LETTRE, H. : Das Yoshida-Sarkom der Ratte.
Z.f. Krebsforsch. 59, 287, 1959.

LEWIN, C. : Immunisierungs- und Heilversuche mit Autolysaten bei Rattentumoren.
Z. f. Krebsforsch. 11, 317 und 352, 1912.

LEWIS, M.R. ; APTEKMAN, P.M. :
Atrophy of Tumors Caused by Strangulation and Accompanied by Development of Tumor Immunity in Rats.
Cancer 5, 411, 1952.

LO, H.H. : Heilung experimenteller Tiertumoren.
Z.f. Krebsforsch. 61, 612, 1957.

LUND, H.C. : Vaccination of Rats against the Yoshida-Ascites-Sarcoma. II. Isolation of Antigen from Ascites Sarcoma Treading with Serum from Sarcoma Resistant Rats.
Acta path. microbiol. scand. 43, 391, 1958. ref. in Cancer 7, 426, 1959.

McDOWELL, E.C. ; TAYLOR, M.J. ; POTTERS, J.S. :
Immunization of Mice Naturally Susceptible to a Transplantable Leukemia.
Proc. Soc. Ex. Biol. u. Med. 32, 84, 1934. citiert bei SCHEINBERG, L.C. ; LEVINE, M.C. ; KUNIKIKO, S. ; TERRY, R.D. : Cancer Res. 22, 67, 1962.

MOROZ, I.L. ; BRITE, A.A. :
Contribution àll' ètuds de la resistance antitumorale chez les animaux an moyen d' extrait tumoral acellulaire.
Eksper. Med. 2, 49, 1940. ref. in Z.f. Krebsforsch. 51, 30, 1941.

NAGASAWA, B. : Studies on Immunological Phenomena in Malignant Tumors (Experimental Studies with Yoshida-Sarcoma).
Dep. of Path. Univ. Tokoku. Gann. 42, 19, 1951.
ref. in Ber. Allg. u. Spez. Path. 12, 266, 1952.

PETRI, M. ; LUND, H.J.C. :
Vaccination against the Yoshida Rat Ascites Sarcoma.
Acta path. microbiol. scand 4411, 106, 1958, ref. in Cancer 7, 552, 1959.

SCHATTEN, W.E. :
An Experimental Study of Postoperative Tumor Metastases.
Cancer 11, 455, 1958.

SCHEINBERG, L.C. ; LEVINE, M.C. ; KUNIKIKO, S. ; TERRY, R.D. :
Induces Host Resistance to a Transplantable Mouse Glioma.
Cancer Res. 22, 67, 1962.

SCHMÄHL, D. ; RIESEBERG, T. :
Experimentelle Untersuchungen an Ratten über die Metastasierung von Tumoren.
Z.f. Krebsforsch. 62, 45, 1958.

SCHRECK, R. ; PRESTON, W.F. :
Toxicity of Homologous Immune Serum to a Transplantable Tumor: Studies Using Phase Microscopy a. Cinemicrography.
J. Nat. Cancer Inst. (Bethesda) 16. 1021, 1956. ref. in Ber. Allg. u. Spez. Pathol. 32, 43, 1956.

SEKLA, B. ; BARVIC, M. :
Passive Transfer of a Tumor Resistent Agent by Serum Injections.
Nature (Lon.) 178, 4531, 1956. ref. inExerpta Med. Cancer 592, 2506, 1957.

WRBA, H. ; RABES, H. :
Zur natürlichen Resistenz gegen Impftumoren.
Z. f. Krebsforsch. 65, 17, 1962

Am Schluß meiner Arbeit möchte ich Herrn Professor Dr. W. BÜNGELER dafür danken, daß er es mir in großzügiger Weise ermöglicht hat, an seinem Institut diese Arbeit durchzuführen.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Professor Dr. DONTENWILL für die Überlassung des Themas und die Anregungen und Ratschläge, die zur Entstehung dieser Arbeit wesentlich beitrugen.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. U. MOHR für seine Hilfe und seine Anregungen bei der Durchführung der Arbeit.

LEBENSLAUF

Am 16. Dezember 1930 wurde ich in Ludwigshafen als Sohn des Chemikers Dr. Claus Heuck und seiner Ehefrau Marieluise Heuck, geb. Michel geboren.

Im Jahre 1936 trat ich in die Volksschule in Bensheim-Auerbach ein und besuchte anschließend die Oberschulen in Bensheim/Bergstraße und in Bad Tölz. Hier bestand ich im Sommer 1951 die Reifeprüfung.

Nach Ableistung des Aufbaudienstes an der tierärztlichen Fakultät der Universität München begann ich im Sommer 1952 mit dem tierärztlichen Studium und beendete dieses am 17. Januar 1957 mit dem Staatsexamen und am 24. Juli 1957 mit der Promotion. Nach Ableistung der Veterinärpraktikantenzeit erhielt ich im Herbst 1957 die Approbation als Tierarzt.

Im Wintersemester 1957 begann ich mit dem Studium der Human-Medizin an der Universität München und bestand hier im Frühjahr 1959 die ärztliche Vorprüfung und nach 6 klinischen Semestern am 6. Juni 1962 das medizinische Staatsexamen.

Seither bin ich als Medizinalassistent an dem pathologischen Institut der Universität München tätig.